



ヘムの自己分解メカニズム - ヘム分解酵素ヘムオキシゲナーゼの触媒機構

著者	坂本 寛
雑誌名	化学と工業
巻	60
号	9
ページ	868-887
発行年	200709-01
URL	http://hdl.handle.net/10228/00006545



ヘムの自己分解メカニズム

ヘム分解酵素ヘムオキシゲナーゼの触媒機構

坂本 寛 Hiroshi SAKAMOTO

生体内でいらなくなったヘムは、活性酸素の発生源となり得るため、直ちに分解される。ヘムオキシゲナーゼはヘム分解系の鍵酵素であるが、ヘムはこの酵素の基質であるとともに、補酵素としても機能する。すなわち、酵素活性中心ではヘムの自己触媒的な分解が起こっている。最近この分解過程が次第に明らかになってきた。

はじめに

ヘムは生命にとって必須の色素である。ヘムは蛋白質の補欠分子族として、酸素の結合・運搬、電子伝達、酸化還元など多様な機能を受けもっているが、蛋白質の寿命がくると、ポリペプチド部分と分かれて代謝される。ヘムオキシゲナーゼ (HO) は、NADPH-シトクロム P450 還元酵素から電子の供給を受け、酸素分子を活性化してヘムを段階的に分解し、一酸化炭素 (CO)、鉄イオン、ビリベルジンが生じる (図 1)。

この反応は基質ヘムが補因子として機能する点でユニークである。まず、HO に取り込まれたヘムが、ヘム鉄上で O_2 を活性化し、 α -メソ炭素 (αC) を選択的に水酸化して、 α -ヒドロキシヘムとなる (第 1 ステップ)。次いで、 αC が CO として遊離し、 α -ベルドヘムが生じる (第 2 ステップ)。最後に、酸素架橋が開裂してビリベルジンが生成され、鉄イオンの遊離後、HO から放出される (第 3 ステップ)。鉄イオンは生体内でリサイクルされ、ビリベルジンはさらに代謝されて、胆汁色素ビリルビンになる。ヘム分解は医学・化学の両面から関心が高く、従来からの生化学的研究手法に加え、近年では HO の X 線結晶構造解析による構造生物学的アプローチによって、その分子メカニズムが明らかになりつつある。ここでは、その概略を紹介する。

さかもと・ひろし

九州工業大学情報工学部生命情報工学科 准教授
 [経歴] 1992 年九州大学大学院理学研究科博士課程修了、博士 (理学)。1992~96 年米国国立衛生研究所国立ガン研究所 (NIH-NCI) 博士研究員、96 年化学品検査協会、97 年久留米大学医学部助手、講師を経て、2005 年より現職。[専門] 生化学。[趣味] お笑い鑑賞。[連絡先] 820-8502 飯塚市川津 680 4 (勤務先)
 E-mail: sakakan@bio.kyutech.ac.jp

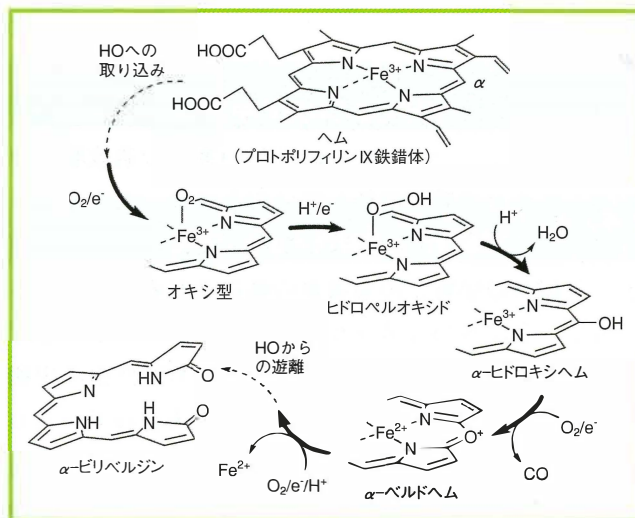


図 1 ヘム分解過程 (ヘムのみ側鎖を示す)

第 1 ステップ: α -メソ位選択的水酸化

この過程はヘム分解を特徴づける反応であり、鉄 3 価ヒドロペルオキシド (Fe^{3+} -OOH、図 1) が反応活性種となって、 αC を求電子的に攻撃し、 α -ヒドロキシヘムを生じると考えられている。同じヘムが関与するペルオキシダーゼやシトクロム P450 の場合、 Fe^{3+} -OOH を前駆体とする鉄 4 価ポルフィリン π -カチオンラジカル ($Fe^{4+}=O(por)^{+\cdot}$) が活性種であるが、HO では人為的に $Fe^{4+}=O(por)^{+\cdot}$ を生じさせてもヘム分解は起こらない¹⁾。つまり、HO 中のヘム周辺的环境には、 Fe^{3+} -OOH が αC を攻撃しやすくする仕掛けがある。

ラット由来 HO-1 とヘムとの複合体に O_2 類似分子として一酸化窒素 (NO) が結合した結晶構造を図 2 に示す²⁾。ヘムは、His 25 との配位結合及び Lys 179、Arg 183 などの塩基性アミノ酸との静電的相互作用によって固定され、ヘム鉄に結合した NO は、 αC の方向に傾いていた。おそらく Fe^{3+} -OOH もこのように配向し、 αC

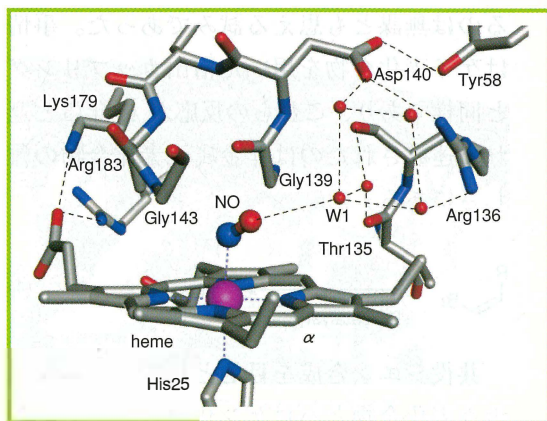


図2 NO-ヘム-ラット HO-1 複合体の立体構造

を攻撃すると考えられる。この構造的要因として、Gly139、Gly143を含む α -ヘリックスがヘムの真上で折れ曲がっているため、配位子が α C方向しか向けないこと、また、配位子と α C近傍の水分子(W1、図2)との水素結合による安定化などが挙げられる。W1はさらに複数の水分子と水素結合を形成しており、Asp140はこのネットワークを介して、 Fe^{3+} -OOH生成に必要な H^+ を供給している³⁾。ジフテリア菌由来HOでは、オキシ型の結晶構造が決定され、ヘム周辺の環境が種を超えて保存されていることが示された⁴⁾。

第2ステップ:COの発生と酸素架橋の形成

このステップでは、ヘム鉄は直接反応に関与しない。鉄3価ヒドロキシヘムは、ヘム鉄に配位子が結合することによって、分子内電子移動が起こり、鉄2価 π -中性ラジカル体になることが電子スピン共鳴解析から知られている⁵⁾。この π -中性ラジカル体のポルフィリン環に O_2 が付加し、 α CがCOとして遊離し、酸素架橋をもつベルドヘムに変換すると考えられる(図3右上)。この反応機構は、再構築系を用いたストップ・フロー実験から支持された(図3左下)⁶⁾。

筆者らは第1ステップの Fe^{3+} -OOHの末端酸素による α Cの水酸化の際、もう一方の酸素が OH^- としてヘム鉄上に残ると考えている。そうすると、ヒドロキシヘムはラジカル体として存在し、速やかに O_2 と反応してベルドヘムとなる。このことは、ヘム分解反応中のヒドロキシヘムが非常に短寿命である事実と符合する。しかし、どのようにCOが発生し、酸素架橋が形成されるのか、そのメカニズムはまだ明らかにされていない。また、条件によっては、上記ルートと異なる反応機構でベルドヘムが生じることも確認されている⁶⁾。

第3ステップ:酸素架橋の開裂と鉄イオンの遊離

ベルドヘムは、有機溶媒中では加水分解やラジカル

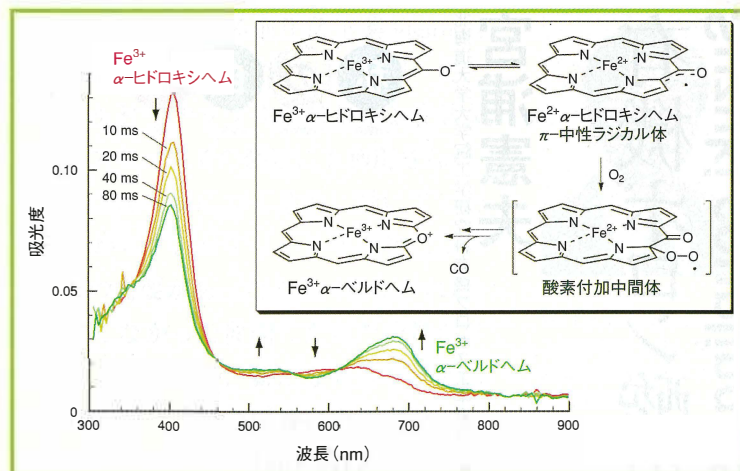


図3 鉄3価ヒドロキシヘム-ラット HO-1 複合体と酸素を迅速混合した後のスペクトル変化(左下)と反応スキーム(右上)

反応でもビリベルジンに変換するが、HO中ではヘム鉄に O_2 が結合することにより、ベルドヘムの開環反応が始まると考えられている⁷⁾。また、 O_2 のほか H_2O_2 によってもビリベルジンが生成されることが見いだされた⁸⁾。いずれの場合も、第1ステップで見られる Fe^{3+} -OOHに類似した化学種が、反応活性種であることが示唆されている。このことから、HOは Fe -OOH中間体を巧妙に利用して、多段階のヘム分解反応を効率的に進行させていることが提唱されている。

おわりに

これまでにヘム分解の生理的役割は、主に鉄の回収にあると考えられてきた。しかし、近年、副産物と思われていたCOがガス状メッセンジャー分子として機能していることがわかってきた。また、ビリベルジンやビリルビンは高い抗酸化能をもち、酸化ストレスに対する生体防御作用をもつことも明らかになった。つまり、ヘム分解は代謝の終末ではなく、新たな生理活性物質生成の出発点だといえる。さらなる詳細なヘム分解メカニズムの解明を基礎として、創薬も含めた新たな研究の展開が期待されている。

- 1) T. Matsui, S. H. Kim, H. Jin, B. M. Hoffman, M. Ikeda-Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1090.
- 2) M. Sugishima, H. Sakamoto, M. Noguchi, K. Fukuyama, *Biochemistry* **2003**, *42*, 9898.
- 3) H. Fujii, X. Zhang, T. Tomita, M. Ikeda-Saito, T. Yoshida, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6475.
- 4) M. Unno, T. Matsui, G. C. Chu, M. Couture, T. Yoshida, D. L. Rousseau, J. S. Olson, M. Ikeda-Saito, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 21055.
- 5) H. Sakamoto, Y. Omata, G. Palmer, M. Noguchi, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 18196.
- 6) H. Sakamoto, K. Takahashi, Y. Higashimoto, S. Harada, G. Palmer, M. Noguchi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2005**, *338*, 578.
- 7) H. Sato, Y. Higashimoto, H. Sakamoto, M. Sugishima, K. Takahashi, G. Palmer, M. Noguchi, *J. Inorg. Biochem.* in press.
- 8) T. Matsui, A. Nakajima, H. Fujii, K. Mansfield-Matera, C. T. Migita, T. Yoshida, M. Ikeda-Saito, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 36833.